



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Genética y Biotecnología

**Análisis transcriptómico del metabolismo de
Shewanella xiamenensis LC6 durante la degradación
de colorantes azo**

TESIS

**Para optar el Título Profesional de Biólogo Genetista
Biotecnólogo**

AUTOR

Carlo Gustavo MORMONTOY QUICANA

ASESOR

Dr. Pablo Sergio RAMÍREZ ROCA

Lima, Perú

2021

RESUMEN

Las industrias textiles generan la mayor cantidad volumétrica de efluentes residuales debido a los múltiples procesos a los que son sometidas las telas. Entre los diversos contaminantes presentes en estos efluentes destacan los colorantes sintéticos, cuya naturaleza xenobiótica los convierte en compuestos altamente tóxicos y persistentes en el ambiente. Los colorantes azo son el grupo químico más común y suelen ser utilizados como modelo para determinar métodos eficientes de remediación. Uno de los métodos más promisorios es la biorremediación bacteriana debido a sus características eco-amigable y costo-eficiente. *Shewanella xiamenensis* LC6 es una cepa bacteriana aislada de efluentes textiles que ha mostrado una elevada tasa de decoloración de diversos colorantes. Luego de re-secuenciar su genoma, se examinó a mayor nivel los procesos biológicos que estarían subyacentes a su capacidad decoloradora. En el presente trabajo, se estudió el efecto de la temperatura y el pH en la eficiencia de decoloración, así como, los genes involucrados en la respuesta adaptativa a colorantes de diferente grado de polaridad molecular. Se realizaron cinéticas de decoloración y se secuenció el ARNm (*RNA-seq*) cuando *S. xiamenensis* LC6 es enfrentada a dos colorantes: rojo de metilo (apolar) y anaranjado de metilo (polar).

Se determinó que *S. xiamenensis* LC6 decolora óptimamente colorantes a 30 °C y pH entre 7.0 - 8.0, dependiendo de la naturaleza química del colorante. Además, los resultados del análisis transcriptómico mostraron que durante la respuesta adaptativa al colorante se induce la expresión de genes involucrados en la captación de hierro y su metabolismo, lo cual favorecería la síntesis de citocromos tipo c (*c-cyt*) como los involucrados en la ruta Mtr. De esta manera, LC6 favorece la transferencia indirecta de electrones hacia los colorantes, y la respuesta fue más intensa frente al colorante polar (de acuerdo con los niveles de expresión génica). Por otro lado, se indujo la expresión

de enzimas específicas a colorantes (azorreductasas) que estarían actuando a nivel intracelular ya que su respuesta fue más intensa frente al colorante apolar. Otros genes involucrados en la respuesta intracelular también fueron regulados positivamente (bombas de eflujo, catalasas, entre otros). Además, se halló una dioxigenasa (*YhhW_3*) que podría estar involucrada en la mineralización del colorante.

Los resultados mostraron que *S. xiamenensis* LC6 estaría utilizando dos mecanismos para clivar el enlace azo: transferencia indirecta de electrones mediado por citocromos tipo c de membrana y azorreducción enzimática directa. Sin embargo, la intensidad de respuesta dependería de la polaridad del colorante. Además, se infirió que LC6 ejerce una respuesta metabólica divergente frente a ambos colorantes.

Palabras clave: *Shewanella*, colorantes, RNA-seq, azorreductasa, citocromos

ABSTRACT

Textile industries generate the largest volumetric amount of residual effluents due to the multiple processes, which the final products are subjected. Among the various pollutants present in these effluents, the synthetic dyes highlights, whose xenobiotic nature becomes them highly toxic and persistent in the environment. Azo dyes are the most common chemical group and they are often used as a model to determine efficient remediation methods. One of the most promising methods is bacterial bioremediation due to its eco-friendly and cost-efficient characteristics. *Shewanella xiamenensis* LC6 is a bacterial strain isolated from textile effluents that has shown a high rate of decolorization of diverse dyes. After re-sequencing its genome, the biological processes underlying its dye degradation ability were examined at a higher level. The effect of temperature and pH on the decolorization efficiency was studied, as well as the genes involved in the adaptive response to dyes of different degrees of molecular polarity. Decolorization rate were performed and the mRNA was sequenced when *S. xiamenensis* LC6 was challenged with two dyes: methyl red (apolar) and methyl orange (polar).

S. xiamenensis LC6 was determined to optimally degradate dyes at 30 ° C and pH between 7.0 - 8.0, depending on the chemical nature of the dye. In addition, the results of the transcriptomic analysis showed that during the adaptive response to the dye, the expression of genes involved in iron uptake and its metabolism was induced, which would increase the synthesis of type c cytochromes (c-cyt) such as those involved in the Mtr pathway. In this way, LC6 improves the indirect transfer of electrons to the dyes, and the response was more intense against the polar dye (according to fold-change determined). On the other hand, the expression of dye-specific enzymes (azoreductases) that would be acting at the intracellular level was induced since their response was more intense against the apolar dye. Other genes involved in the

intracellular response were also positively regulated (efflux pumps, catalases and others). In addition, a dioxygenase (*YhhW_3*) was found that could be involved in the mineralization of the dye.

The results showed that *S. xiamenensis* LC6 would be using two mechanisms to cleave the azo bond: indirect transfer of electrons mediated by membrane cytochromes type c and direct enzymatic azoreduction. However, the intensity of the response would depend on the polarity of the dye. Furthermore, it was deduced that LC6 exerts a divergent metabolic response against both dyes.

Keyword: *Shewanella*, dye, RNA-seq, azoreductase, cytochromes